

THESIS

MUNICH

1965

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

ÜBER DAS VORKOMMEN VON ANTIKÖRPERN
GEGEN PARAINFLUENZA 2 - VIREN BEI KINDERN

von

SILVIA KLEMM



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Universitäts-Kinderklinik im Dr. v. Hauner'schen Kinderspital, München
Direktor: Prof. Dr. med. Alfred Wiskott

ÜBER DAS VORKOMMEN VON ANTIKÖRPERN
GEGEN PARAINFLUENZA 2 - VIREN BEI KINDERN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

SILVIA KLEMM

aus Arnsdorf

MÜNCHEN 1965

Referent: Priv. Doz. Dr. med. O. Goetz

Korreferent: Prof. Dr. med. A. Wiskott

Dekan: Prof. Dr. med. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juni 1965

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. EINLEITUNG

a) Viruserkrankungen des Respirationstrakts	1
b) Fragestellung	2

II. LITERATURÜBERSICHT

a) Die Myxovirusgruppe	3
b) Entdeckungsgeschichte des Parainfluenza 2-Virus	5
c) Gemeinsame Erkenntnisse verschiedener Autoren	6
d) Bedeutung des Parainfluenza 2-Virus als Erreger von Respirationskrankheiten	8

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

a) Material und Methode	9
b) Ergebnisse	12

IV. DISKUSSION

a) Vor- und Nachteile der verschiedenen Testverfahren	15
b) Interpretation der gefundenen Durchseuchungskurven	18
c) Vergleich unserer Ergebnisse mit denen anderer Durchseuchungsstudien	18

V. ZUSAMMENFASSUNG 22

VI. LITERATURVERZEICHNIS 23

I. EINLEITUNG

a) Viruskrankheiten des Respirationstrakts

Akute Infekte der oberen Luftwege machen nach statistischen Erhebungen mehr als zwei Drittel aller menschlichen Erkrankungen aus (VIVELL, 47). Das häufige Vorkommen solcher Infekte läßt daran denken, daß es einerseits eine große Anzahl von Erregern gibt, daß aber andererseits diese Erreger keine solide Immunität erzeugen und so laufend zu Reinfektionen führen.

Die primär bakteriellen Erkrankungen, zu denen einige klassische Infektionskrankheiten des Kindesalters, wie Keuchhusten, Diphtherie und die eitrigen Anginen gehören, sind ätiologisch geklärt. Sie spielen aber in ihrer Häufigkeit von 3% im Verhältnis zu den anderen Respirationskrankheiten nur eine untergeordnete Rolle (ALTEVOGT, 1). Dagegen blieb das große Feld dessen, was der praktische Arzt als grippalen oder respiratorischen Infekt bezeichnet, lange Zeit ungeklärt. Es gelang dabei auch kaum, klinisch so spezifische Befunde zu erheben, daß man einheitliche Krankheitsbilder beschreiben konnte, wie dies bei den klassischen Viruskrankheiten Masern, Röteln, Windpocken und Mumps lange vor Entdeckung der Erreger möglich war. Neben den uncharakteristischen respiratorischen Infekten seien gewisse Formen von Bronchopneumonie, Pneumonie und Krupp erwähnt, die trotz eingehender Untersuchungen nicht auf eine bakterielle Ätiologie zurückzuführen waren.

Erst die Virusisolierung und -züchtung auf Gewebekulturen brachten in den letzten Jahren eine Fülle neuer Erreger zum Vorschein. Während man 1948 etwa 60 menschenpathogene Virusarten kannte, sind es inzwischen über 170 geworden (VIVELL, 47). Zahlreiche abakterielle Infektionen lassen sich heute mit Hilfe von virologisch-serologischen Methoden klären. Hierzu ist zu sagen, daß bei klinisch einheitlichen Erkrankungen verschiedene Erreger gefunden werden und umgekehrt, gleiche Erregertypen verschiedene klinische Erscheinungen hervorrufen können. Obwohl die Erforschung ätiologischer Zusammenhänge bei den mannigfachen Möglichkeiten gewisse Schwierigkeiten bereitet, sind Virusuntersuchungen von großer praktischer Bedeutung. Eine wirksame Bekämpfung abakterieller Infekte hat nämlich nur dann Aussicht auf Erfolg, wenn der Erreger bekannt ist, zumal wir vorläufig noch auf spezifische Immunisierungsmaßnahmen oder eine Seroprophylaxe und -therapie angewiesen sind (HILLMANN, 23).

Wie wir heute wissen, sind bei Erkrankungen der Atemwege die Myxoviren von besonderer Wichtigkeit. Wir denken dabei an Influenza und influenzaähnliche Infekte. Weitere Krankheiten im Respirationstrakt, nach Angaben von JORDAN (25) etwa 2-5%, werden durch Adenoviren hervorgerufen. Außerdem kommen, als noch nicht gruppierbare Erreger, die RS- (Respiratory Syncytial) und die CCA- (Chimpanzee Coryza Agent) Viren in Frage. Der Vollständigkeit halber sollen noch der Erreger der primär atypischen Pneumonie (PAP-Virus), die Rickettsia burneti, das Ornithose- und das Common-Cold-Virus genannt werden. Gelegentlich können auch Enteroviren (Coxsackie-, Echo- und Poliomyelitisviren) uncharakteristische, katarrhalische Erscheinungen verursachen.

b) Fragestellung

Die so bedeutsamen virusbedingten Respirationstraktkrankheiten führen zu einer ausgedehnten Erforschung ihrer Erreger.

Neben den Untersuchungen, die sich auf die Natur der Viren an sich beziehen, spielen die sogenannten Durchseuchungsstudien eine wesentliche Rolle, da sie sowohl über die Infektionshäufigkeit, als auch über die örtliche und zeitliche Verteilung bestimmter Viren in der Bevölkerung Aufschluß geben.

Da Erkrankungen der Atemwege bevorzugt bei Kindern auftreten und in diesem Alter auch lebensbedrohlich verlaufen können, ist diese Gruppe bei entsprechenden Untersuchungen besonders zu berücksichtigen. Die Kenntnis des Durchseuchungsgrades und des Antikörpertiters in den verschiedenen Altersstufen erlaubt es, auf das Verhalten und die Verbreitung der Viren zu schließen.

Eine solche Durchseuchungsstudie stellt die vorliegende Arbeit dar. Sie befaßt sich mit dem Vorkommen von Antikörpern gegen das Parainfluenza 2-Virus bei gesunden, fraglich infizierten Kindern.

II. LITERATURÜBERSICHT

a) Die Myxovirusgruppe

Zunächst soll nun über das uns interessierende Parainfluenza 2-Virus, im Zusammenhang mit der Myxovirusgruppe, berichtet werden.

Nach einem Vorschlag von ANDREWES (2) werden seit 1955 zu dieser Gruppe alle Virusarten gezählt, die Zellwandmucoproteide enzymatisch angreifen, ein Hämagglutinin besitzen und auch hinsichtlich ihrer sonstigen Eigenschaften mit dem Influenza-Virus Typ A verwandt sind. Zu den Myxoviren gehören neben den Influenza-Viren der Typen A, B, C und ihrer Untertypen auch die Parainfluenza-Viren (PJV 1/2/3/4), das Mumps-Virus, sowie das klassische Geflügelpest- und das Newcastle-Disease-Virus (NDV). Ein abgewandeltes Schema nach ANDREWES möge die Gliederung der Myxovirusgruppe veranschaulichen (Schema I nach S.4).

Die unterschiedlichen Bezeichnungen für denselben Erregerstamm, die vor allem in der Parainfluenzagruppe zu finden sind, weisen darauf hin, daß diese Viren erst in jüngster Zeit entdeckt und beschrieben wurden. Die Namen der Viren änderten sich im Laufe ihrer Erforschung. Ursprünglich waren die Bezeichnungen entweder mit dem klinischen Bild verbunden, wie bei dem Croup-Associated-Virus (CA- oder PJ₂-Virus), lokalbedingt, wie bei dem Sendai-Virus, oder sie entsprachen charakteristischen, chemischen Eigenschaften, wie bei den hämagglutinierenden Viren der Typen 1 und 2 (HA₁ = PJV₂, HA₂ = PJV₁).

In einer kurzen Beschreibung geben wir einen Überblick der spezifischen Eigenschaften dieser Gruppe (ANDREWES, 2).

Morphologie: Die Myxoviren sind kugelförmig und bewegen sich in der Größe zwischen 60 und 200 m μ . Man findet vor allem bei den Influenza-Viren häufig filamentöse Formen, während derartige Fortsätze bei den Parainfluenza-Viren nicht beobachtet werden (VIVELL, 43).

Physikalische Eigenschaften: Die Myxoviren lassen sich bei -70°C konservieren, verlieren aber nach Behandlung mit 20% Äthyläther ihre infektiöse Wirkung.

Hämagglutination: Myxoviren, die an der Oberfläche von Hühner- und anderen Vertebratenerythrocysten adsorbiert werden, verursachen Häm-

agglutination. Danach lassen sie sich mehr oder weniger eluieren, nachdem sie durch ihre enzymatische Wirkung irreversible Veränderungen der Mucoproteinezeptoren auf der Erythrocytenoberfläche geschaffen haben. Die Adsorption und die Agglutination können durch gewisse Mucoproteide aus Säugerseren und anderen biologischen Flüssigkeiten verhindert werden (VOGEL, 47).

Antigencharakter: Kulturen, die mit Myxoviren infiziert sind, enthalten ein lösliches Antigen, das kleiner als die Viruspartikel selbst ist und dem Virus seine Spezifität verleiht. Da die Stämme desselben Virus serologisch divergieren können, je nach dem Grad der antigenen Überschneidung, nimmt man an, daß die Viruspartikel noch spezifischer reagieren als das lösliche Antigen (HILLMANN, 23).

Wachstum: Es gelingt in der Amnionhöhle befruchteter Hühnereier. Nach der Adaptation kann man die Viren auch in der Allantoishöhle und in Kulturen von Säugergewebe züchten (VIVELL, 47).

Vorkommen: Die Viren werden gewöhnlich nur im Respirationstrakt von Vögeln und Säugern gefunden. Sie können aber auch generalisierte Infektionen hervorrufen und im Blut und in verschiedenen anderen Organen auftreten.

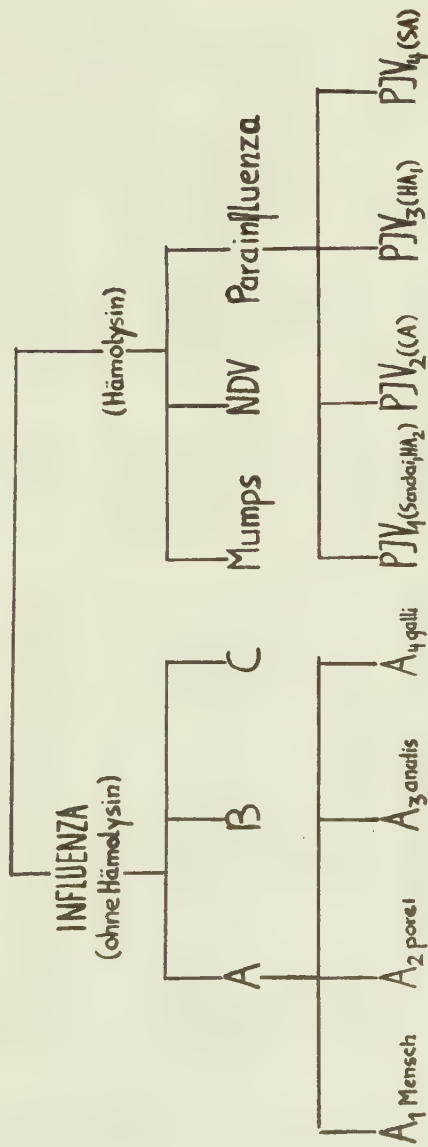
Pathogenität: Myxoviren rufen sowohl inapparente als auch klinisch sichtbare Infektionen hervor, die mit Entzündung der Atemwege verbunden sind. Die meisten Erreger produzieren nach der Adaptation eine auf Mäuse und Hamster übertragbare Pneumonie.

Wie aus Schema I zu ersehen ist, unterscheiden sich Mumps-, Newcastle-Disease-Viren und die Parainfluenzagruppe von den Influenza-Viren durch die Fähigkeit, Erythrocyten zu hämolysieren (MÜLLER, 34).

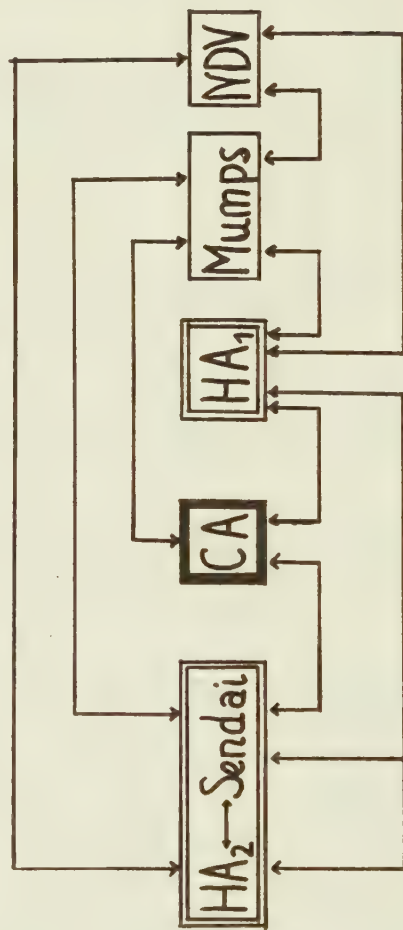
Obwohl man noch kein gemeinsames Antigen für die Parainfluenza-Viren finden konnte, zeigen diese doch zahlreiche Antigenbeziehungen untereinander, was dazu berechtigt, diese Erreger in einer eigenen Gruppe zusammenzufassen. COOK (13) nimmt an, daß jedes Parainfluenza-Virus eine Reihe von Antigenen besitzt, die chemisch ähnlich konfiguriert, aber doch für die einzelnen Virustypen spezifisch sind. Es ist möglich, daß mehrere Antigene der ganzen Gruppe gemeinsam sind, jedes der Parainfluenza-Viren aber diese Antigene in unterschiedlicher Menge besitzt. Diese Theorie spräche für eine quantitative Spezifität (COOK, 13). Die Parainfluenza-Viren sind nicht nur untereinander verwandt, sondern stehen auch den beiden übrigen hämo-

SCHEMA I

MYXOVIREN



SCHEMA 2



Antigenbeziehungen zwischen Mumps-, ND- und Parainfluenza-
viren.

Anmerkung: Parainfluenzagruppe in doppelter Umarmung.

lysierenden Erregern der Myxovirusgruppe, nämlich dem ND- und dem Mumps-Virus, serologisch nahe.

Zur Veranschaulichung der vielfältigen Antigenbeziehungen zwischen Mumps-, ND- und Parainfluenza-Viren möge das von uns entworfene Schema 2 dienen. Wir beziehen uns dabei auf Untersuchungen von ANDREWES (3), CHANOCK (6 und 9), COOK (13), CRAMBLETT (15), DEIBEL (16), GARDNER (20), HILLMANN (22), JENSEN (25), KILHAM (28), LENNETTE (32), SIEGERT (40 und 41), WATERSON (40) und ZHDANOV (51).

Im Schema 2 konnte das Parainfluenza 4-Virus (SA) nicht berücksichtigt werden, weil dessen Antigenbeziehungen noch zu wenig bekannt sind.

Während das Mumps- und das ND-Virus den Respirationstrakt nicht angreifen, verursachen die Parainfluenza-Viren mehr oder weniger ernsthafte Infekte der Luftwege.

Nachdem wir das CA-Virus im Rahmen der Myxovirusgruppe betrachtet haben, wollen wir nun auf Berichte eingehen, die sich ausschließlich mit diesem Erreger befassen.

b) Entdeckungsgeschichte des Parainfluenza 2-Virus

Im Winter 1954/55 untersuchte CHANOCK (6) in Cincinnati (Ohio, U.S.A.) die Erreger des Krupps und isolierte dabei aus dem Rachenspülwasser der an Krupp erkrankten Kinder ein Virus, das er der Myxovirusgruppe zuordnete.

Beweisend für einen ätiologischen Zusammenhang zwischen Erreger und Krankheit ist der vierfache Anstieg des Antikörpertiters nach den ersten drei Krankheitswochen. CHANOCK (6) testete deshalb die zu Beginn der Infektion entnommenen Seren auf ihren Gehalt an spezifischen Antikörpern gegen das fragile Virus und verglich sie mit denen, die er drei Wochen nach dem Krankheitsausbruch gewonnen hatte. Durch die Isolierung und den Nachweis des vierfachen Anstiegs spezifischer Antikörper zeigte sich, daß 5 von 12 erkrankten Kindern im Alter von 3 bis 30 Monaten mit dem neu entdeckten Erreger infiziert waren. CHANOCK (6) vermutete eine ätiologische Beziehung zwischen diesem Agens und dem Krupp-Syndrom und nannte es deshalb Croup-Associated (CA)-Virus.

Unabhängig davon fand BEALE (4) zur selben Zeit bei 10 von 15 respirationskranken Kindern in Toronto (Kanada) Virusstämme, die sich von den in Cincinnati isolierten serologisch nicht unterscheiden ließen. Eine weitere Isolierung

rung gelang CRAMBLETT (15) 1957 bei einem an Krupp erkrankten Säugling in Iowa City (USA).

Im selben Jahr identifizierten VOGEL (23) und WARD (36) 5 Virusstämme als CA-Viren, die 1955 in Washington D.C. bei Kindern mit influenzaartigen Krankheitserscheinungen gefunden worden waren. Diese Stämme wurden also zu derselben Zeit isoliert, in der das Parainfluenza 2-Virus in Cincinnati und Toronto mit Krupp assoziiert war, was für eine weite Verbreitung des Virus im Jahre 1955 spricht. Das Vorkommen dieses Virus, sowohl bei Krupp als auch bei leichteren Erkältungen, läßt auf seine Variationsbreite schließen.

In einer kleinen serologischen Durchseuchungsuntersuchung von gesunden Kindern und jungen Männern in Washington fand CHANOCK (6/7) bei 25% der Kinder und bei 90% der Erwachsenen hämadsorbierende Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus.

Seit 1955 wird allerdings nur noch relativ selten über die Isolierung des Erregers in Amerika berichtet.

Ähnliche Verhältnisse liegen in England vor. Obwohl CLARKE und SAYNOR (12) schon 1958 in Sheffield (England) bei 36% der untersuchten Kinder unter 8 Jahren einen positiven Hirsttest (= Hämadsorptions-Hemmungstest) feststellten, konnten PEREIRA und FISHER (36) erst 1959 das CA-Virus zum ersten Mal in England isolieren. 13 Kinder zwischen 4 und 48 Monaten wurden wegen akuter Laryngotracheobronchitis hospitalisiert. Aus 2 von 6 Rachenspülungen ließ sich das Parainfluenza 2-Virus isolieren und bei 2 weiteren Patienten konnte man einen vierfachen Antikörpertiter-Anstieg serologisch nachweisen. Im selben Jahr isolierte GARDNER (20) bei respirationskranken Kindern 4 Stämme der Parainfluenza 2-Gruppe.

Diesen Untersuchungen in Amerika und England folgten Durchseuchungsstudien in Deutschland und Italien, die wir später zum Vergleich unserer eigenen Ergebnisse heranziehen werden.

c) Gemeinsame Erkenntnisse verschiedener Autoren

Nachdem kurz berichtet wurde, welche Forscher sich mit der Natur des Parainfluenza-2-Virus beschäftigt haben, erscheint es angebracht, auf die grundlegenden Arbeiten von CHANOCK (6) einzugehen und herauszustellen, welche gemeinsamen Einsichten sich aus den darauffolgenden Untersuchungen ergaben.

CHANOCK isolierte die aus Rachenspülwasser stammenden Viren auf Affennie-

renzellen. Am 10. Tag nach Beimpfung zeigte sich in der Gewebekultur ein cytopathogener Effekt (CPE), der bei den weiteren Viruspassagen schon am 3. Tag nach der Inkubation auftrat. Durch den Verlust der Zellgrenzen entstand ein syncytialer Bereich, der sich bald darauf aus der Epithelschicht löste. Im Cytoplasma erschienen zahlreiche Vakuolen und eine feine Granulierung, die mit der Veränderung normaler Zellstrukturen einherging. Dieser Vorgang führte zu einem schwammartigen (sponge like) Bild. 24 - 48 Stunden nach dem Verlust der Zellgrenzen hatten sich 80 - 90% der Affennierenzellen aus der Gewebekultur losgelöst, während die restliche Epithelschicht einem "Schweizer Käse" (swiss cheese) glich. Ähnlich reagierte das menschliche Amniongewebe, das sich bei gleichen Versuchsbedingungen als 10 mal empfindlicher gegen kleinste Virusmengen erwies als die Affennierenzellen.

Entsprechende Zellveränderungen durch das Einwirken des Parainfluenza 2-Virus konnten auch CRAIGHEAD (14), CRAMBLETT (15) und HUEBNER (23) beobachten. Während CHANOCK (6) den schwammähnlichen, cytopathogenen Effekt des CA-Virus mit den durch Polio-, Echo-, Herpes simplex- und Mumpsviren verursachten Erscheinungen verglich, sah BEALE (4) in ihm eine besondere Ähnlichkeit mit dem CPE des Masernvirus.

Die Vermehrung des Parainfluenza 2-Virus gelingt auf Affennieren- und menschlichen Helazellen. In der Amnionhöhle von Küken geht sie nur langsam voran; und in der Allantoishöhle ist sie sogar unmöglich (VIVELL, 44).

Die Größe des Erregers variiert zwischen 90 und 135 μ . Bei -70°C bleibt er mindestens 5 Monate lang unverändert. Versetzt man das Virus 15 Stunden lang mit 20% Aether bei $+4^{\circ}\text{C}$, dann verliert es seine infektiöse Wirkung.

Wie auch die anderen Myxoviren vermag das CA-Virus Hühnererythrocyten zu agglutinieren. Die Hämagglutination ist ein reversibler Vorgang, der bei $+4^{\circ}\text{C}$ stattfindet. Bei einer Erwärmung auf $+37^{\circ}\text{C}$ läßt sich eine Dissoziation der Erythrocyten beobachten. Durch das Receptor Destroying Enzyme (RDE) aus *Vibrio Cholerae*-Filtrat werden unspezifische Inhibitoren für das Virus-hämagglutinin entfernt, so daß man den Hirsttest anwenden kann, um entsprechende Antikörper nachzuweisen.

Das Parainfluenza 2-Virus besitzt somit alle Eigenschaften, die zur Einteilung in die Myxovirusgruppe gefordert werden. Es unterscheidet sich aber deutlich von den übrigen, dieser Gruppe zugeordneten Viren durch seine enzymatische Einwirkung auf spezifische Rezeptoren der Hühnererythrocyten.

Schon CHANOCK (6) vermutete eine Antigenbeziehung zwischen Parainfluenza 2- und Mumpsviren, die mittels serologischer Kreuzreaktionen auch von CLARKE (12), CRAMBLETT (15), DEIBEL (16), HILLMANN (21), McLEAN (30) und SIEGERT (40) bestätigt werden konnte. Es besteht jedoch nach CHANOCK keine Antigenverwandtschaft mit den Influenza-, ND-, HA₁- und Sendai-Viren. Im Gegensatz dazu entdeckte COOK (13) bei mit Sendai- oder HA₁-Viren immunisierten Meerschweinchen heterologe Antikörper gegen das CA-Virus. Dieser Befund wurde durch entsprechende Ergebnisse von SIEGERT (40) und LENNETTE (31) erhärtet. Es gelang also durch umfangreiche Untersuchungen, die Kenntnis der Antigenbeziehung zwischen Parainfluenza 2-Viren und anderen Gliedern der Myxovirusgruppe zu erweitern.

Wie aus der Zusammenstellung verschiedener Berichte hervorgeht, herrscht im allgemeinen Übereinstimmung in den wesentlichen Eigenschaften des Parainfluenza 2-Virus.

d) Bedeutung des Parainfluenza 2-Virus als Erreger von Respirationserkrankungen

Wie wir schon ausführten, wurde das Parainfluenza 2-Virus zum ersten Mal im Zusammenhang mit Krupp gefunden. Es wäre nun wissenswert, welche Bedeutung diesem Virus im Verhältnis zu den anderen Erregern dieser Krankheit zukommt.

1948 untersuchte RABE (42) zum ersten Mal systematisch die Ursache des Krupps. Da er nur in 14% der Kranken die Ätiologie durch entsprechenden Bakteriennachweis klären konnte, nahm er an, die Infektion sei in den meisten Fällen virusbedingt. So kam es zu der Bezeichnung "Viral Croup".

Erst CHANOCK(6) bestätigte diese Vermutung durch die Isolierung des Croup-Associated-Virus.

Inzwischen erkannte man, daß nicht nur die Parainfluenza 2-Viren, sondern auch HA Typ 1-, HA Typ 2-, Influenza- und Adenoviren als Krupperreger in Frage kommen. Anhand der noch spärlichen Literatur ist es vorläufig schwierig zu beurteilen, welche der Viren die ätiologisch bedeutsamsten sind. Während CHANOCK (6/7/8) und BEALE (4) 1955 das Parainfluenza 2-Virus bei 45 - 66% der Kruppkranken isolierten, wurde seitdem nur noch selten über derartige Zusammenhänge berichtet. VARGOSKO (43), der 1957/58 entsprechende Untersuchungen durchführte, fand bei 36% der Kranken eine Beziehung zwischen HA Typ 2-Viren und Krupp. Dagegen kamen nur in 9% der Fälle

CA-, HA Typ 1- und Adenoviren als Erreger in Frage. Offenbar ändert sich die ätiologische Bedeutung der einzelnen Viren für Krupp von Saison zu Saison und von Region zu Region.

Verfolgt man nur die Berichte über Parainfluenza 2-Viren, dann ergibt sich, daß diese am häufigsten im Zusammenhang mit Krupp isoliert wurden (HILLMANN, 22). Gelegentlich fand man sie aber auch bei Kindern mit uncharakteristischen grippalen Infekten. Nach statistischen Erhebungen sind Parainfluenza 2-Viren in 2-3% der Fälle als Ursache von Respirationstrakterkrankungen anzusehen (HILLMANN, 22; VIVELL, 46). Sie gelten heute neben den Parainfluenza 1/3-Viren als die wichtigsten Erreger des Krupps bei Kindern.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

a) Material und Methode

In der vorliegenden Arbeit wird das Vorkommen von neutralisierenden und komplementbindenden Antikörpern gegen das Parainfluenza 2-Virus untersucht. 201 Einzelseren von Kindern zwischen 0 und 15 Jahren aus München und der weiteren Umgebung wurden getestet. Außerdem prüften wir 9 dieser Seren auf heterologe, komplementbindende Antikörper gegen das Mumps-virus.

Viren: Das Parainfluenza 2-Virus[†]) wurde von der Common Cold Research Unit zur Verfügung gestellt. Für die Komplementbindungsreaktion züchteten wir das Virus auf primären Affennierenzellen, während das Virus für den Neutralisationstest auf menschlichen Helazellen gewonnen wurde. Die Zellschicht war zur Zeit der Inokulation vollkommen ausgebildet. Nach 1 Std. Adsorption bei +37°C wurde Erhaltungsmedium zugegeben. Den Kulturüberstand ernteten wir nach 4 Tagen. Zu dieser Zeit zeigten praktisch alle Zellen den typischen cytopathogenen Effekt (CPE). Der Kulturüberstand wurde bei -70°C in einem CO₂-Alkoholbad eingefroren. Zur Freisetzung der intrazellulären Viren tauten wir das Gemisch bei +37°C wieder auf und zentrifugierten es 15 Min. lang bei 5000 U/min. Das Sediment wurde verworfen, der klare Überstand in geeigneten Mengen von 10 ml abgefüllt.

Das Mumpsantigen stammt aus den Behringwerken, Marburg/Lahn.

[†]) Die Überlassung des Antigens verdanken wir D.A.J. Tyrell, Natural Institute for Medical Research/Common Cold Unit/Salisbury (England).

Zellkulturen: Die Helazellkulturen für den Neutralisationstest wurden nach Versenieren transferiert und in 15 x 125 mm-Röhrchen mit Gummistopfen angelegt.

Puffer: Die Virus- und Serumverdünnungen für den Neutralisationstest setzen wir mit Erhaltungsmedium an, während für die Verdünnungen in der Komplementbindungsreaktion Veronalpuffer verwendet wurde.

Medien: Als Basismedium diente Hank's Stammlösung +0,5% Laktalbuminhydrolysat (Difco) +0,5% Yeastextrakt (Difco). Den Wachstumsmedien wurde 5%, den Erhaltungsmedien nur 2% Kalbserum zugesetzt. Schließlich gaben wir pro Milliliter fertigen Mediumgemischs 100 E Penicillin und 100 mg Streptomycin dazu, um ein Maximum an Sterilität zu gewährleisten.

Seren: Das Kalbserum gewannen wir aus frischem Kalbsblut vom Münchener Schlachthof. Es wurde zentrifugiert, bei +56°C inaktiviert und nach Passieren durch Seitzfilter auf Keimfreiheit geprüft. Das als Komplement verwendete Meerschweinchenserum stammt aus den Behringwerken, Marburg/Lahn.

Das menschliche Serum wurde aus steril entnommenem Blut nach 15 Min. langem Zentrifugieren bei 3000 U/min gewonnen. Um das in wechselnden Mengen vorhandene und daher die Reaktion störende thermolabile Komplement zu inaktivieren, wurde das Serum 30 Min. lang einer Temperatur von +56°C ausgesetzt und anschließend bis zum Tag des Versuchs bei -20°C im Eisschrank aufbewahrt.

Die Komplementbindungsreaktion in der Technik von KOLMER (38)

Das Prinzip der Komplementbindungsreaktion beruht auf der Bindung von freiem Komplement, die in Gegenwart von Antigen und den im Serum vorhandenen spezifischen Antikörpern stattfindet. Dieser an sich unsichtbare Vorgang wird durch nachträgliches Hinzufügen eines hämolytischen Systems (sensibilisierte Hammelerythrocyten) sichtbar gemacht. Enthält das zu untersuchende Serum spezifische, komplementbindende Antikörper, dann ist das Komplement für das hämolytische System nicht mehr verfügbar und die Hämolyse unterbleibt. Bei fehlenden Antikörpern dagegen tritt Hämolyse ein, was an der lackfarbenen, roten Flüssigkeit zu erkennen ist.

Die Antigeneinstellung des Parainfluenza 2-Virus erfolgte mit einem positiven Immunserum von bekanntem Titer. Das Zweifache der Antigenmenge, die im

Einstellungsversuch noch zu einer vollständigen Hämolyse geführt hatte, entsprach 2 Antigeneinheiten. In dieser Dosis wurde das Antigen für die Komplementbindungsreaktion verwendet.

Das Mumpsantigen verdünnten wir in der von den Behringwerken angegebenen Weise (1 : 4). In der weiteren Untersuchungstechnik bestand sonst kein Unterschied zu dem unten beschriebenen Verfahren.

In einem zweiten Vorversuch, der jedem Hauptversuch vorausging, bestimmten wir die Komplementverdünnung, die gerade noch eine Hämolyse hervorrief. Das Doppelte dieses Verdünnungstiters (2 Komplementeinheiten) fand im Hauptversuch Verwendung.

Die menschlichen Seren setzten wir in der Verdünnung 1 : 8 und 1 : 16 an. Bei vierfach positiver Reaktion (stärkste Trübung) wurde bis zu 1 : 128 ausstitriert. In jedem Versuch lief ein negatives und ein positives Kontrollserum von bekanntem Titer mit. 2 Antigeneinheiten (0,1 ml), 2 Komplementeinheiten (0,2 ml) und 0,1 ml verdünntes Serum, wurden nach 15 Std. Inkubation bei +4°C mit 0,2 ml sensibilisierten Hammelerythrocyten versetzt. Die Ablesung erfolgte nach 30 Min. langer Inkubation bei +37°C.

Der Neutralisationstest

Diese Reaktion beruht in der Neutralisation von Viren durch Antikörper. Als Indikator für eine stattgefundene Neutralisation werden virusempfindliche Gewebekulturen verwendet. Befinden sich in den fraglichen Seren neutralisierende Antikörper, dann bleibt der sonst zu erwartende cytopathogene Effekt (CPE) des Antigens in den Gewebekulturen aus.

In einem Vorversuch wurde mittels einer Virusverdünnungsreihe die Infektionsdosis festgestellt, die bei 50% der damit beimpften Helazellen einen cytopathogenen Effekt hervorrief (= J.D. 50). Wir verwendeten das 100-Fache dieser Dosis, also 100 J.D. 50/ml. Den 4- und 8-fach verdünnten Seren setzten wir die gleiche Menge (0,2 ml) Virusverdünnung zu. Nach 30 Min. langer Inkubation bei +37°C wurden je 0,2 ml des Serumantigengemischs in gut bewachsene Kulturröhrchen gegeben. Es wurde 1 Std. bei +37°C inkubiert. Zell- und Viruskontrollen wurden bei jedem Versuch mitgeführt. Täglich kontrollierten wir die Kulturen auf abgelöste Zellen. Nach drei Tagen, wenn in dem Viruskontrollröhrchen ein deutlicher cytopathogener Effekt zu sehen war, wurde abgelesen. Trat bei der Verdünnung 1 : 8 eine vollständige Neutralisation auf, was sich in den unversehrten Helazellen zeigte, dann wurde der Test mit den Verdünnungen 1 : 32, 1 : 64, 1 : 128 und 1 : 256 verlängert.

b) Ergebnisse

Einen Anhalt für die Durchseuchung der Kinder mit Parainfluenza 2-Virus geben die in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse.

Tabelle 1: Ergebnisse der Serumuntersuchungen auf komplementbindende und neutralisierende Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus

Zahl der geprüften Seren	Zahl (%) der Seren mit positiver KBR. reziproker AK-Titer: 8 und <	Zahl (%) der Seren mit positivem NT. reziproker AK-Titer 8 und <
201	50 (25 %)	121 (60 %)

Aus der Tabelle läßt sich ersehen, daß dem Befund von neutralisierenden Antikörpern entsprechend 60% der Untersuchten im Laufe ihres Lebens mit Parainfluenza 1-Virus in Berührung gekommen sind. Auffallend ist die Diskrepanz zwischen dem Vorkommen von komplementbindenden und neutralisierenden Antikörpern. Letztere wurden mehr als doppelt so oft nachgewiesen.

Die Häufigkeit eines Antikörperbefundes in den verschiedenen Altersgruppen soll in Tabelle 2 wiedergegeben werden. Sowohl in der Komplementbindungsreaktion als auch im Neutralisationstest zeigte sich ein Absinken der Zahl von Antikörperträgern nach den ersten 5 Lebensmonaten und ein Ansteigen derselben mit zunehmendem Alter.

Tabelle 2: Häufigkeit des Vorkommens von neutralisierenden und komplementbindenden Antikörpern gegen Parainfluenza 2-Virus in 201 Seren von Kindern verschiedener Altersgruppen

Alter	Zahl der ge- prüften Seren	Zahl (%) der Seren mit positiver KBR	Zahl (%) der Seren mit positivem NT
1-6 Mo	33	7 (21 %)	16 (48 %)
6-12 Mo	18	3 (16 %)	4 (22 %)
1-3 J.	49	6 (11 %)	24 (51 %)
3-6 J.	33	10 (30 %)	23 (70 %)
6-15 J.	68	24 (35 %)	54 (80 %)

In Tabelle 3 werden die von uns angewandten serologischen Untersuchungsmethoden in ihrer Fähigkeit, spezifische Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus nachzuweisen, miteinander verglichen.

Tabelle 3: Vergleich zweier serologischer Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Antikörpern gegen Parainfluenza 2-Virus

Zahl der geprüften Seren	Zahl (Prozent) der Seren:		
	nur positiv in der KBR	positiv in NT und KBR	nur positiv im NT
201	9 (4,5 %)	41 (21 %)	80 (40 %)

41 Seren enthielten sowohl neutralisierende als auch komplementbindende Antikörper. Außerdem ließen sich durch den Neutralisationstest zusätzlich 80 Fälle erfassen, die mittels der Komplementbindungsreaktion keinen positiven Befund zeigten, was auf eine größere Empfindlichkeit des Neutralisationstests hinweist. In 9 Seren fanden sich ausschließlich komplementbindende Antikörper. Da nach Angaben von CHANOCK (8/9/10), PARROTT (34) und SIEGERT (40) die Komplementbindungsreaktion im Nachweis von Antikörpern weniger spezifisch als der Neutralisationstest ist, standen wir diesem Ergebnis besonders kritisch gegenüber. Wie auf Seite 8 schon ausgeführt wurde, besteht eine ausgeprägte Antigenverwandtschaft zwischen Parainfluenza 2- und Mumpsviren. Deshalb prüften wir die fraglichen 9 Seren zusätzlich auf komplementbindende Antikörper gegen das Mumpsvirus. Tabelle 4 zeigt, daß in 7 von 9 untersuchten Seren gleichzeitig komplementbindende Antikörper gegen das Mumpsvirus gefunden wurden.

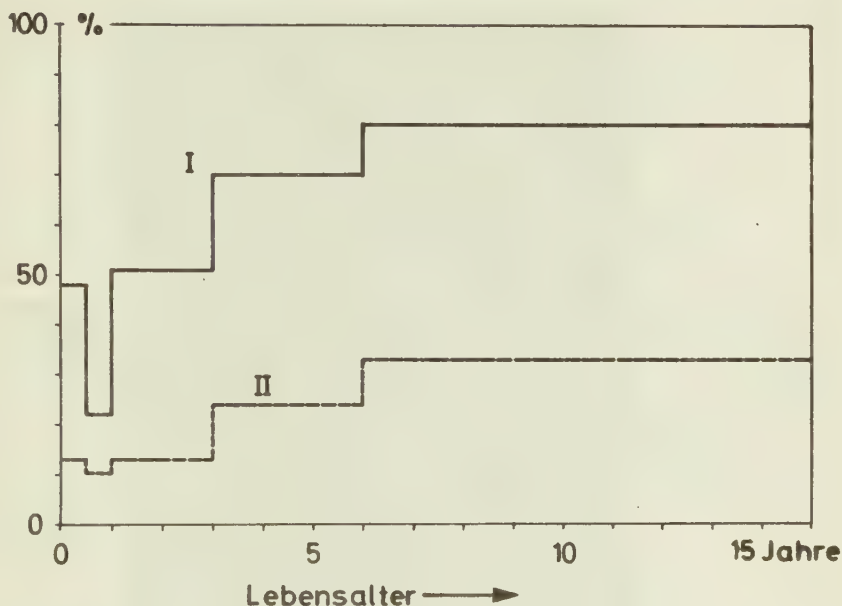
Tabelle 4: Vorkommen von komplementbindenden Antikörpern gegen das Mumpsvirus in 9 Seren, die nur komplementbindende Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus enthielten

Fälle	Alter	Reziproke Titer der komplementbindenden Antikörper gegen:	
		Parainfluenza 2 - Virus	Mumpsvirus
Nr. 1	20 T	8	< 8
Nr. 2	8 Wo	64	8
Nr. 3	10 Wo	32	16
Nr. 4	1 J	32	8
Nr. 5	1 J	64	< 8
Nr. 6	5 J	32	8
Nr. 7	16 J	16	32
Nr. 8	11 J	32	16
Nr. 9	12 J	8	8

Da diese Seren in ihrer Bedeutung für die Durchseuchung mit Parainfluenza 2-Virus nicht eindeutig beurteilt werden können, fanden sie bei der nun folgenden Auswertung der Ergebnisse keine Berücksichtigung.

In Abbildung 1 sei die Beziehung zwischen dem Lebensalter und der Häufigkeit des Vorkommens neutralisierender Antikörper anhand von Kurve I veranschaulicht. Im Vergleich dazu soll Kurve II die Häufigkeit des gleichzeitigen Vorkommens von neutralisierenden und komplementbindenden Antikörpern, d.h. des doppelt gesicherten Antikörperbefundes, in den verschiedenen Altersgruppen wiedergeben. Auf die Darstellung des Vorkommens komplementbindender Antikörper in einer dritten Kurve wurde verzichtet, da die entsprechenden eindeutigen Befunde sich schon aus Kurve II ablesen lassen und die restlichen 9 Seren aus oben ausgeführten Gründen nicht zu verwerfen sind.

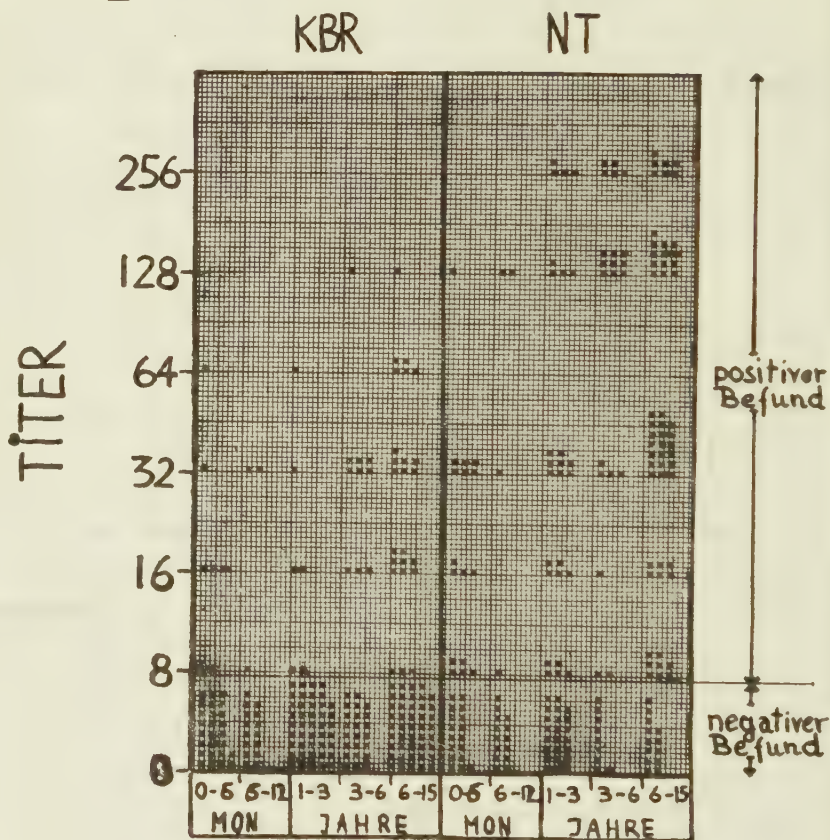
Abb. I



Kurve I: Häufigkeit des Vorkommens von neutralisierenden Antikörpern gegen das Parainfluenza 2- Virus in 201 Einzelseren von Kindern verschiedener Altersgruppen.

Kurve II: Häufigkeit des gleichzeitigen Vorkommens von neutralisierenden und komplementbindenden Antikörpern gegen Parainfluenza 2-Viren in 201 Einzelseren von Kindern verschiedener Altersgruppen.

Abb 2



Titer der in den verschiedenen Altersgruppen nachgewiesenen komplementbindenden (KBR) und neutralisierenden (NT) Antikörper gegen Parainfluenza 2- Viren.

In Kurve I zeigt sich besonders ausgeprägt der Abfall des Antikörperbefundes in der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres, dann steigt die Kurve steil an und erreicht in der Altersgruppe 6 - 15 Jahre eine Antikörperhäufigkeit von 80%. Wesentlich niedriger liegen die Werte, die über das gleichzeitige Vorkommen von neutralisierenden und komplementbindenden Antikörpern in den einzelnen Altersgruppen Auskunft geben. Auch in Kurve II finden wir, wenn auch weniger ausgeprägt, ein nach dem 6. Monat auftretendes Absinken und ein darauf folgendes kontinuierliches Anwachsen der Zahl der Antikörperträger mit zunehmendem Lebensalter.

Aus Abbildung 2 sind die in der Komplementbindungsreaktion und im Neutralisationstest gefundenen Titerwerte zu ersehen.

Die in den verschiedenen Altersgruppen dargestellten Antikörperbefunde nehmen nicht nur nach dem ersten Lebensalter an Zahl zu, sondern erreichen auch höhere Titer. Die Seren, in denen mittels der Komplementbindungsreaktion beträchtliche Antikörpertiter gefunden wurden, zeigten erwartungsgemäß auch im Neutralisationstest entsprechende Werte, wenn man von einigen Ausnahmen absieht. Schon in den ersten 6 Lebensmonaten ließen sich mittels beider Testverfahren auch höhere Titer nachweisen, die sich zur Zeit des sinkenden Antikörpervorkommens im 6. - 12. Monat in ihrer prozentualen Verteilung nicht wesentlich änderten.

VI. DISKUSSION

a) Vor- und Nachteile der verschiedenen Testverfahren

Zum besseren Verständnis unserer Ergebnisse erscheint es angebracht, zunächst die serologisch-virologischen Untersuchungsmethoden, die hier angewandt wurden, miteinander zu vergleichen.

Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus lassen sich durch den Hämagglutinations-Hemmungstest, den Hämadsorptions-Hemmungstest, den Neutralisationstest und die Komplementbindungsreaktion nachweisen. In den ersten drei Verfahren wird die Tatsache ausgenutzt, daß bestimmte Wirkungen des Parainfluenza 2-Virus auf Erythrocyten oder Zellkulturen durch das Zufügen von spezifischen Antikörpern neutralisiert werden. Da der Hämadsorptions-Hemmungstest als Variante des Neutralisationstests in seiner Empfindlichkeit gleich zuverlässig ist, wurde er für unsere Untersuchung nicht zusätzlich angewandt.

Der Hämagglutinations-Hemmungstest (HIRST) hatte zunächst bei den Myxovirusinfektionen eine große Bedeutung erlangt (VOGEL, 48). Nach CHANOCK (6/7) eignet er sich genauso gut wie der Neutralisationstest zum Nachweis von Antikörpern gegen das Parainfluenza 2-Virus. HAAS (21) und BEALE (4) haben dagegen festgestellt, daß der Wert des Tests beeinträchtigt wird durch die vielen unspezifischen Inhibitoren, die im menschlichen Serum vorkommen und die auch durch Erwärmung des Serums oder Behandlung mit dem Receptor Destroying Enzyme (RDE) nicht in ihrer Gesamtheit erfaßt werden.

Da der Neutralisationstest, im Gegensatz zu dem Hämagglutinations-Hemmungstest, nach wie vor als relativ spezifisch gilt, fand er in unserer Untersuchung Anwendung. Zur Technik dieses Verfahrens ist zu bemerken:

CHANOCK (6) beobachtete bei inaktivierten Seren einen Verlust der neutralisierenden Aktivität der Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus und schlug vor, zum Neutralisationstest keine auf + 56°C erwärmten Seren zu verwenden. Auch GRAMBLETT (15) nahm an, daß die neutralisierenden Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus thermolabil seien. DEIBEL (16), FOTHINGHAM (18) und McKINNEY (30) konnten jedoch keinen Unterschied der neutralisierenden Aktivität zwischen erwärmten und nicht erwärmten Seren erkennen. Ebensowenig ließ sich in unseren Untersuchungen eine Beeinträchtigung der neutralisierenden Antikörper durch die routinemäßige Inaktivierung feststellen.

Für Durchseuchungsstudien erscheint der Neutralisationstest besonders angebracht, weil neutralisierende Antikörper noch Jahre nach einer Infektion mit Parainfluenza 2-Viren, sei sie nun klinisch apparent oder latent verlaufen, serologisch nachzuweisen sind.

Zum Vergleich wurden die Seren zusätzlich in der Komplementbindungsreaktion getestet, obwohl diese weniger spezifisch und auch weniger empfindlich ist. Da sich aber die komplementbindenden Antikörper nur begrenzte Zeit lang, nach Berührung mit Parainfluenza 2-Viren, im Serum finden, geben sie im Gegensatz zu den persistierenden, neutralisierenden Antikörpern einen Hinweis auf den Zeitpunkt der zurückliegenden Infektion und sind insofern für unsere Untersuchung von Bedeutung (DEIBEL, 16 und VIVEIL, 45).

Besonders empfindlich reagieren die komplementbindenden Antikörper bei schweren Formen von Parainfluenza 2-Virus-Infektionen, wie Laryngotracheobronchitis und Krupp. Der zur Serodiagnose geforderte vierfache Titeranstieg, der spezifischen Antikörper innerhalb der ersten drei Wochen nach Krankheitsausbruch, bleibt selten aus (CHANOCK, 6/7, TYRELL, 42).

Unsere Ergebnisse zeigten einen auffallenden Unterschied zwischen dem Vorkommen von neutralisierenden (121) und komplementbindenden (50) Antikörpern, den man aus dem früheren Verschwinden letzterer erklären könnte. Die mangelnde Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion mag aber auch an der Unfähigkeit der untersuchten Kinder liegen, nach leichten und latenten Infektionen mit Parainfluenza 2-Viren genügend hohe Titer von komplementbindenden Antikörpern zu bilden.

Bei 9 Individuen fanden sich komplementbindende Antikörper ohne einen entsprechenden Befund in dem mehr spezifischen Neutralisationstest. Diese Diskrepanz und die verschiedentlich erwähnten und auch hier vermuteten Antigenbeziehungen des Parainfluenza 2-Virus zu anderen Gliedern der Myxovirusgruppe könnten so verstanden werden:

Die antigene Überlappung in dieser Gruppe wirkt sich besonders in der Bildung von heterotypischen, komplementbindenden Antikörpern aus, während diese Verwandtschaft bei den neutralisierenden Antikörpern weniger stark zum Ausdruck kommt.

Der gleichsinnige Ausfall der Komplementbindungsreaktion bei 7 von 9 getesteten Seren gegen das Parainfluenza 2- und das Mumpsvirus erlaubt jedoch noch keine eindeutigen Schlüsse bezüglich einer hier vorliegenden Antigengemeinschaft. Es fehlt die Isolierung des entsprechenden Erregers; außerdem muß man eine Zufallskoinzidenz berücksichtigen, die bei der kleinen Untersuchungszahl schwer zu bestimmen ist.

Da nun die komplementbindenden Antikörper weniger spezifisch sind, sollte man annehmen, daß sie häufiger nachgewiesen werden als die neutralisierenden. Vermutlich wirken sich jedoch die kürzere Verweildauer der Erstgenannten im Serum und die geringere Empfindlichkeit der Komplementbindungsreaktion auf das Auffinden von komplementbindenden Antikörpern so nachteilig aus, daß dadurch das Überwiegen der neutralisierenden zu erklären ist.

Die kombinierte Anwendung beider serologischen Methoden ermöglicht es, die in der Komplementbindungsreaktion nachgewiesenen Antikörper in ihrer Spezifität für das Parainfluenza 2 -Virus durch den positiven Neutralisationstest zu überprüfen. Eine falsche Deutung der komplementbindenden Antikörper soll dadurch verhindert werden.

b) Interpretation der gefundenen Kurven

Zur Kurve I der Abbildung 1:

Die relative Häufigkeit eines Antikörperbefundes bei Säuglingen bis zu 6 Monaten und der deutliche Abfall in der nächsten Gruppe (6-12 Monate) läßt sich als Ausdruck des Verschwindens diaplazentar übertragener Antikörper verstehen. Nach dem ersten Lebensjahr ist ein Anstieg positiver Reaktionen zu beobachten, was dem frühzeitigen Auftreten von Infektionen mit dem Parainfluenza 2-Virus entspricht. Der steile Anstieg der Kurve I vom 1. bis zum 6. Lebensjahr gibt Aufschluß darüber, daß in diesem Zeitabschnitt der Hauptzuwachs der Antikörperträger erfolgt, d.h. wir finden hier das Hauptdurchseuchungsalter. Bei den Schulkindern zeigt die Kurve I einen flacheren Verlauf, als Zeichen eines geringeren Zuwachses der Antikörperträger in dieser Gruppe.

Kurve II

bewegt sich erwartungsgemäß auf niedrigerem Niveau, weil in der Komplementbindungsreaktion nur die Fälle erfaßt wurden, bei denen eine Auseinandersetzung mit dem Parainfluenza 2-Virus noch nicht lange zurücklag. Da die komplementbindenden Antikörper nach einigen Monaten aus dem Serum verschwinden, ist es nicht verwunderlich, daß diaplazentar übertragene Antikörper bei Säuglingen bis zum 6. Monat hier seltener sind als in Kurve I. Entsprechende Überlegungen gelten auch für die Kinder, die aktiv Antikörper gebildet haben. Obwohl Kurve II im ganzen flacher verläuft, läßt sich doch auch aus ihr das Absinken und Ansteigen der Antikörperträger in Abhängigkeit vom Alter ersehen.

Von praktischer Bedeutung ist vor allem die Feststellung, daß Säuglinge im 6. - 12. Monat durch den mangelnden Antikörperschutz schweren Infektionen mit dem Parainfluenza 2-Virus besonders ausgesetzt sind. Diese Tatsache kommt in beiden Kurven zum Ausdruck und wird durch entsprechende Untersuchungen von DEIBEL (16) bestätigt.

c) Vergleich unserer Ergebnisse mit denen anderer Durchseuchungsstudien

Das Verständnis der Verbreitung und des Verhaltens von Parainfluenza 2-Viren mag durch den Vergleich unserer Ergebnisse mit denen anderer Autoren erhellt werden.

Tabelle 5 zeigt eine Zusammenstellung von Durchseuchungsstudien, die in

Einzugsgebiet	Jahr	Testart	Gesamtzahl KINDER	Positiver Bef. ZAHL	%	Gesamtzahl ERWACHSENE	Positiver Bef. Zahl	%
1. Washington DC	1955	Hirst	16	4	25%	20	18	90%
2. Sheffield/Engl.	1958	Hirst	52	19	36%	218	146	67%
3. Südlouisiana	1959/60	NT	380	140	37%			
4. Denver/Col.	1959/60	HAHT	64	25	39%	50	24	48%
5. Bologna	1960	HAHT	20	9	45%	22	11	50%
6. Virginia	1960	NT	238	83	25%			
7. Freiburg/Brsg.	1960	NT	196	39	20%	65	46	71%
8. München	1962/63	NT	201	121	60%			
		NT u. KBR	201	41	21%			

Tabelle 5: Zusammenstellung des Vorkommens von neutralisierenden (HAHT, NT), hämadsorptionshemmenden (HIRST) und komplementbindenden Antikörpern gegen das Parainfluenza 2-Virus in verschiedenen Bevölkerungsgruppen nach Durchseuchungsstudien folgender Autoren: 1. CHANOCK (6)

Anmerkung:

HAHT = Hämaggglutinations-Hemmungstest

NT = Neutralisationstest

Hirst = Hämadsorptions-Hemmungstest

KBR = Komplementbindungsreaktion

Unter NT und KBR sind die Seren angeführt, die gleichzeitig neutralisierende und komplementbindende Antikörper enthielten.

2. CLARKE (12)

3. FOTHINGHAM (18)

4. u. 5. LA PLACA (38)

6. PARROTT (35)

7. DEIBEL (16)

8. Eigene Untersuchungen

den letzten 10 Jahren zur Klärung dieser Fragen angefertigt wurden. Man hat Bevölkerungsgruppen verschiedener Herkunft und verschiedenen Alters getestet. Zur Untersuchung spezifischer Antikörper gegen das Parainfluenza 2-Virus wurden serologische Methoden herangezogen, die sich in ihrer Empfindlichkeit voneinander unterschieden. Während sich die anderen Autoren nur eines Tests bedienten, wandten wir zum erstenmal den Neutralisationstest kombiniert mit der Komplementbindungsreaktion an. Trotz divergierender Untersuchungsverfahren sollen die Ergebnisse miteinander verglichen werden.

Wie aus Tabelle 5 hervorgeht, finden sich bei den Erwachsenen mehr Antikörpertträger als bei den Kindern. Vergleicht man aber die Antikörperhäufigkeit, die bei den Kindern festgestellt wurde, dann fällt vor allem der besonders hohe Durchseuchungsgrad in der Münchener Gruppe auf.

Während die in Washington und Bologna ermittelten Ergebnisse wegen der kleinen Untersuchungszahl in ihrem Aussagewert begrenzt sind, erlauben die Befunde aus Südlouisiana eine repräsentative Aussage von der Verbreitung des Parainfluenza 2-Virus in diesem Gebiet.

Bemerkenswert ist der unterschiedliche Durchseuchungsgrad bei den Freiburger und den Münchener Kindern, obwohl bei beiden Untersuchungen derselbe Test angewandt wurde. Im Gegensatz zu dem Antikörperbefund, den wir mit Hilfe des Neutralisationstests erhoben haben, entspricht das Vorkommen doppelt gesicherter Antikörper den Ergebnissen, die in Freiburg im Neutralisationstest allein ermittelt wurden.

Die auffallenden Differenzen bezüglich des Durchseuchungsgrades lassen sich, abgesehen von den unterschiedlichen serologischen Verfahren, auch dadurch erklären, daß wir Kinder bis zum 15. Lebensjahr getestet haben, während in anderen Gruppen zum Teil nur Säuglinge und Kleinkinder untersucht wurden.

Ausschlaggebend für die Diskrepanz der Ergebnisse scheint uns aber das Verhalten des Parainfluenza 2-Virus selbst zu sein. Im Gegensatz zu den Parainfluenza 1/3-Viren variiert das Vorkommen dieses Erregers von Ort zu Ort (KIM (29)), was auch aus dieser Zusammenstellung deutlich hervorgeht.

Zur Erforschung des Parainfluenza 2-Virus sind neben den Durchseuchungsstudien Untersuchungen notwendig, die sich auf die Isolierung des Virus beziehen. Außerdem ist es erforderlich, eine kausale Beziehung zwischen Respirationskrankheiten und Erregern durch den vierfachen Titeranstieg innerhalb der ersten drei Wochen nach Krankheitsausbruch zu prüfen.

Als Ursache von Erkältungskrankheiten sind die Parainfluenza 2 -Viren von untergeordneter Bedeutung. O. VIVELL (46) stellte in einer größeren Untersuchung fest, daß das Parainfluenza 2-Virus nur in 2,7% der Respirationstraktkrankheiten nachgewiesen werden konnte. Entsprechende Untersuchungen liegen aus dem Münchener Gebiet noch nicht vor, doch verläuft wahrscheinlich auch hier eine Infektion mit Parainfluenza 2-Viren klinisch meist unauffällig. Nach unserer Durchseuchungsstudie kann man aber sagen, daß die ursprünglich in den USA entdeckten Parainfluenza 2-Viren auch bei uns sehr verbreitet sind. Als Erreger von Krupp bei Säuglingen und Kindern werden sie ganz besonders gefürchtet.

In diesem Zusammenhang interessiert vor allem die Möglichkeit einer aktiven Prophylaxe. Bei künstlich herbeigeführten Infektionen mit Parainfluenza 2-Viren wurde beobachtet, daß ein genügend hoher Antikörpertiter, der schon vor der Inokulation bestand, den Krankheitsverlauf entweder abschwächt oder eine klinische Auswirkung des Infektes verhinderte (CHANOCK, 11; JENSEN, 25 und KAPIKION, 27).

Beim Auftreten von Respirationserkrankungen durch Parainfluenza 1/3-Viren in einem Kinderheim zeigte sich, daß Kinder mit Antikörpertitern über 64 vor klinisch sichtbaren Infektionen mit diesem Erreger geschützt waren (HILL-MANN, 23).

Diese Beobachtungen weisen auf den möglichen Erfolg einer Seroprophylaxe oder Vaccination hin, die gegen das Parainfluenza 2-Virus vor allem in dem gefährdeten Säuglingsalter von Bedeutung wäre.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Sinn dieser Arbeit ist es, das Verhalten von komplementbindenden und neutralisierenden Antikörpern gegen Parainfluenza 2-Viren zu untersuchen. Wir testeten 201 Seren von Säuglingen und Kindern bis zum 15. Lebensjahr.

Dabei wurden in 60% der Fälle neutralisierende, in 25% komplementbindende Antikörper gefunden. Durch die kombinierte Anwendung des Neutralisationstests und der Komplementbindungsreaktion ließen sich bei 21% der Kinder doppelt gesicherte Antikörperbefunde ermitteln. 7 Seren enthielten sowohl gegen das Parainfluenza 2- als auch gegen das Mumpsvirus komplementbindende Antikörper. Es ist zu diskutieren, ob die Übereinstimmung durch Antigenverwandtschaft oder durch Zufallskoinzidenz erklärt werden kann.

Anhand von Durchseuchungskurven verglichen wir die Ergebnisse beider serologischen Verfahren miteinander. Dabei zeigte sich übereinstimmend ein besonders seltenes Vorkommen von komplementbindenden und neutralisierenden Antikörpern bei Säuglingen im 6. bis 12. Monat. Diese Gruppe ist also schweren Infekten mit Parainfluenza 2-Viren in hohem Maße ausgesetzt.

Wie aus unseren Ergebnissen hervorgeht, sind die in den USA entdeckten Parainfluenza 2-Viren auch bei uns weit verbreitet. Eine passive oder aktive Prophylaxe gegen diese Erreger scheint nicht ausgeschlossen zu sein.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTEVOGT, RA. und M.E.RAEHLMANN
Untersuchungen über das Vorkommen von komplementbindenden
Antikörpern gegen Grippe- und Adenoviren im Raume Münster.
Archiv f.Hyg.u.Bakt. 147/Heft 213 (1963)
2. ANDREWES, C.H., F.B.BANG and F.M.BURNET
A short Description of the Myxovirus Group.
Virology 1, 176 (1955)
3. ANDREWES, C.H., F.B.BANG and R.M.CHANOCK
Parainfluenza Viruses 1, 2, and 3: Suggested Names for recently
described Myxoviruses. Virology 8, 129 (1959)
4. BEALE, A.J., D.L.MCLEOD, W.STACHIW and A.J.THODES
Isolation of cytopathogenic Agents from Respiratory Tract in acute
Laryngotracheobronchitis. Brit.Med.J. 1, 302 (1958)
5. BURNET, F.M. and D.E.LIND
Hemolysis by NDV: General Character of Hemolytic Action.
Austr.J.Exp.Med. 88, 503 (1948)
6. CHANOCK, R.M.
Association of a new Type of cytopathogenic Myxovirus with infantile
Croup. J.Exp.Med. 104, 555 (1956)
7. CHANOCK, R.M.
Recovery of a new Type of Myxovirus from Infants with Croup.
Ann. N.Y.Acad.Sci. 67, 287 (1957)
8. CHANOCK, R.M. and L.FINSBERG
Recovery from Infants with Respiratory Illness of Virus related to
Chimpanzee Coryza Agent (CCA). Amer.J.Hyg. 66, 291 (1957)
9. CHANOCK, R.M., R.H.PARROTT, M.K.COOK and B.E.ANDREWES
Newly recognized Myxoviruses from Infants with Respiratory Disease.
New Engl.J.Med. 258, 207 (1958)
10. CHANOCK, R.M., A.VARGOSKO, A.LUCKEY, M.K.COOK, A.Z.KAPIKIAN and R.H.PARROTT
Association of Hemadsorption Viruses with Respiratory Illness in
Childhood. J.Amer.Med.Ass. 169, 548 (1959)

11. CHANOCK, R.M., D.C. WONG, R.J. HUEBNER and J.A. BELL
Serologic Response of Individuals infected with Parainfluenza Viruses.
Amer. J. of Publ. Health 50, No. 12/Dec. (1960)
12. CLARKE, S.K.R. and R. SAYNOR
Hemagglutination Inhibition Tests against CA Virus.
Arch. ges. Virusforschung 9, 288 (1959)
13. COOK, M.K., B.E. ANDREWES and H.H. FOX
Antigenic Relations among the Newer Myxoviruses.
Amer. J. Hyg. 69, 250 (1959)
14. CRAIGHEAD, J.G., A. SHELOKOV, P.H. PERALTA and J.E. VOGEL
Croup Associated Virus Infection in Adults.
New Engl. J. Med. 264, 135 (1961)
15. CRAMBLETT, H.G.
Isolation of a cytopathogenic Agent resembling CA Virus from an
Infant with Croup. *Pediatrics* 22, 56 (1958)
16. DEIBEL, R., O. VIVELL, H. HÖLZENBEIN und GERDA LIPS
Serologische und klinische Untersuchungen über Viruserkrankungen
des Respirationstraktes. *Zschr. Kinderheilk.* 86, 525 u. 543 (1962)
17. EVANS, A.S.
Infections of Hemadsorption Virus in University of Wisconsin Students.
New Engl. J. Med. 263, 233 (1960)
18. FOTHINGHAM, T.F., K. CHAIYON and M.D. SAMYAKORU
Viruses in Southern Louisiana.
Public Health Report 76, 765 (1961)
19. GARDNER, P.S.
Serologic Evidence of Infection with Sendai Virus in England.
Brit. Med. J. 78, 465 (1957)
20. GARDNER, P.S., J.D. STANFIELD, A.E. WRIGHT and S.D.M. COURT
Viruses, Bacteria and Respiratory Disease in Children.
Brit. Med. J. 101 (1960) 1077
21. HAAS, R.
Lehrbuch der mediz. Mikrobiologie, S. 396

22. HILLMANN, H. M. R., and P. D. VINCENT
Acute Respiratory Illness among Children and Adults.
J. Amer. Med. Ass. 180, 445 (1962)
23. HILLMANN, H. M. R.
Respiratory Viruses and Respiratory Vaccines.
Amer. Rev. Resp. Dis. 87, 165 (1963)
24. HUEBNER, R. J., W. P. ROWE and R. M. CHANOCK
Newly recognized Respiratory Tract Viruses.
Am. Rev. Microbiol. 12, 49 (1958)
25. JENSEN, K. E., B. E. DEELER and G. WILLIAM
Immunization against Parainfluenza Infection.
J. of Immunology 89, 216 (1962)
26. JORDAN, W. S.
Acute Respiratory Diseases of Viral Etiology.
Am. J. of Publ. Health 52, 892 (1962)
27. KAPIKIAN, A. Z., R. M. CHANOCK, R. REICHELDERFER, T. G. WARD
and R. HUEBNER
Inoculation of Human Volunteers with Parainfluenza 3-Virus.
J. Amer. Med. Ass. 178, 537 (1961)
28. KILHAM, L., E. JUNGHEHN and R. E. LUGINBUHL
Antigenhemagglutinating and Neutralizing Factors against NDV
occurring in Sera of Patients convalescent from Mumps.
J. Immunol. 63, 37 (1949)
29. KIM, H. W., R. H. PARROTT, R. M. CHANOCK and VARGOSKO
Parainfluenza 2-Virus: Variable Prevalence and Etiologic Association with Croup.
Amer. J. Dis. Child. 100, 484 (1960)
30. McKINNEY, R. W., B. L. ENGLAND and S. FROEDE
Studies with Hemadsorptionvirus Type 1.
Amer. J. Hyg. 70, 280 (1959)
31. McLEAN, D. M., T. E. ROY, M. D. O'BRIEN, J. C. WILLIE and E. J. McQUEEN
Parainfluenzaviruses in Association with acute laryngotracheobronchitis.
Canad. Med. Ass. J. 85, 290 (1961)

32. LENNETTE, E.H., W.F.JENSEN, R.W.GUENTHER and R.L.MAGOFFIN
Serologic Responses Parainfluenza Viruses in patients with Mumps
Virus Infection.
J. of Laboratory and Clinic Medicine 61, 780 (1963)
33. MOFFET, H.L. and H.G. CRAMBLETT
Viral Isolations and Illnesses in Young Infants Attending a Well-
Baby Clinic.
New Engl.J.Med. 267, 1213 (1962)
34. MÜLLER, F.
Die virusbedingten Erkältungskrankheiten.
Dtsch.Med.Wschr. 85, 463 (1960)
35. PARROTT, R.H., A.J.VARGOSKO and H.W.KIM
Serologic Studies over a 34 Months Period of Children with Bronchio-
litis. J.Amer.Med.Ass. 176, 653 (1961)
36. PARROTT, R.H. and A.J.VARGOSKO
Myxoviruses: Parainfluenza.
Amer.J.Publ. Health 52, 907 (1962)
37. PEREIRA, M.S. and O.D.FISHER
An Outbreak of acute Laryngotracheobronchitis associated with Para-
influenza 2-Virus.
Lancet 2, 790 (1960)
38. LA PLACA, R. and C.MOSCOVI
Distribution of Parainfluenza Antibodies in Different Groups of
Population. J.Immunol. 88, 290 (1962)
39. REPLOH, H. und OTTE, H.J.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten,
Bakteriologische und serologische Technik: 109. Gustav Fischer Ver-
lag Stuttgart (1961)
40. SIEGERT, R., D.FALKE, F.DIETRICH und M.B.FRIOLET
Influenzainfektionen des Typ D/Sendai in Deutschland.
Dtsch.Med.Wschr. 84, 659 (1959)
41. SIEGERT, R., G.ENDERS und A.HECKER
Parainfluenzainfektionen in Westdeutschland.
Dtsch.Med.Wschr. 86, 1 (1961)

42. TYRELL, D.A.J., M.L.BYNOE, B.K.PETERSEN, R.N.P.SUTTON and M.S.PEREIRA
Inoculation of Human Volunteers with Parainfluenza Viruses Type 1 and 3.
Brit.Med.J. 7, 909 (1959)
43. VARGOSKO, A.J.
Association of Type 2 Hemadsorption Virus and Asian Influenza A-Virus with infectious Croup.
New Engl.J.Med. 261, 9 (1959)
44. VIVELL, O.
Fortschritte der virologischen Erforschung von Respirationskrankheiten.
Behringwerk-Mitteilungen 38, 76 (1960)
45. VIVELL, O. und R.DEIBEL
Serologische und klinische Untersuchungen über Viruserkrankungen des Respirationstraktes.
Zschr. Kinderheilk. 86, 535 u. 553 (1962)
46. VIVELL, O., M.AXMANN und G.LIPS
Die Epidemie von Respirationserkrankungen im Winter 1961/62.
Dtsch.Med.Wschr. 87, 1996 (1962)
47. VIVELL, O.
Der akute Infekt der Luftwege und seine Erreger.
Arch.Kinderheilk. 166, Heft 2 (1962)
48. VOGEL, J. and A.SHELOKOV
Adsorptions-hemagglutinationtest for Influenza Virus in Monkey.
Kidney Tissue Culture. Science 126, 358 (1957)
49. WATERSON, A.P., K.E.JENSEN and D.A.J.TYRELL
The Structure of Parainfluenza 3 Virus.
Virology 14, 374 (1961)
50. WENNER, H.A., J.WESTON and A.MARSH
The Epidemiology of acute Respiratory Illness.
Pediatrics 28, 886 (1961)
51. ZHDANOV, A. and A.BURINSKAYA
Further Considerations on Nomenclature of Parainfluenza Viruses.
Virology 10, 146 (1960)

Herrn Oberarzt Dr.med. Otmar Goerz bin ich für die Überlassung des Themas und die wertvollen Anregungen und Hinweise sowie für die Arbeitsmöglichkeiten in der virologischen Abteilung der Friedrich-Baur-Stiftung zu Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Am 19. Juni 1940 wurde ich, Silvia Klemm, als Tochter des apl. Professors Dr. rer. nat. Alfred Klemm und seiner Ehefrau Hannelore, geb. Rothe, in Arnsdorf/Schlesien geboren. Ich gehöre der römisch-katholischen Kirche an.

Nach vierjährigem Aufenthalt in Hirschegg/Bayern (1940-1944) zogen wir nach Hausen im Killertal/Württemberg, wo ich 1946 eingeschult wurde und bis 1949 die dortige Volksschule besuchte. 1950 siedelten wir nach Mainz über. Nach neunjährigem Besuch des neusprachlichen Gymnasiums der Maria-Ward-Schule in Mainz legte ich dort die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1959 begann ich in Mainz das Medizinstudium. Nach zwei Semestern bestand ich dort das Vorphysikum, nach fünf Semestern die ärztliche Vorprüfung. Vom Oktober 1961 bis zum Juni 1962 war ich an der medizinischen Fakultät der Universität Paris eingeschrieben. Seit dem Wintersemester 1962 studiere ich an der Universität München.

